

## Zależność pomiędzy morfologią krwi obwodowej i wybranymi czynnikami klinicznymi a stopniem zaawansowania i zróżnicowania raka trzonu macicy

### Complete blood count and selected clinical factors: are they related to the grade and stage of endometrial cancer?

Klinika Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Bytom, Polska

Adres do korespondencji: Kamila Trepka, Klinika Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Szpital Specjalistyczny nr 2, ul. Batorego 15, 41-902 Bytom, e-mail: kamilatrepka@gmail.com

Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecologic Oncology, Medical University of Silesia in Katowice, Poland

Correspondence: Kamila Trepka, Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecologic Oncology, Medical University of Silesia in Katowice, Specialist Hospital No. 2, Batorego 15, 41-902 Bytom, Poland, e-mail: kamilatrepka@gmail.com

#### Streszczenie

Rak trzonu macicy jest najczęstszym nowotworem złośliwym narządu płciowego kobiety. Sposób leczenia zależy od typu histologicznego, stopnia zróżnicowania i zaawansowania nowotworu. Podstawową metodą leczenia jest operacja: usunięcie macicy z przydatkami w stopniu IA G1/G2 z dodatkową limfadenektomią miedniczą w stopniu IB i wyższych oraz w każdym przypadku G3. Limfadenektomia stwarza ryzyko wielu powikłań. Celem badania była ocena, czy przedoperacyjne wyniki morfologii krwi obwodowej mają związek ze stopniem zaawansowania i zróżnicowania w typie endometrioidalnym raka endometrium, a więc czy można je wykorzystać m.in. w kwalifikacji do limfadenektomii. Do badania retrospektywnego włączono 283 pacjentki z rakiem endometrium, leczone pierwotnie operacyjnie w Klinice Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2008–2014. Przeanalizowano zależność pomiędzy takimi czynnikami, jak: wiek, wskaźnik masy ciała, poziom hemoglobiny, hematokryt, PLT, MPV, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, nierództwo, a stopniem zaawansowania i zróżnicowania raka endometrium. Podzielono grupę badaną na dwie podgrupy: grupę dobrego rokowania – IA G1 i IA G2, oraz złego rokowania – IA G3, IB, II, III, IV. Następnie podzielono grupę badaną wg stopnia zróżnicowania histopatologicznego na G1, G2, G3. W obliczeniach statystycznych wykorzystano test *t*-Studenta, test *z*, test *U* Manna–Whitneya, test Kołmogorowa–Smirnowa oraz krzywą ROC. Pomiędzy grupami dobrego i złego rokowania nie wykazano różnic istotnych statystycznie dla wymienionych czynników. Analiza regresji logistycznej wykazała, że czynnikami zwiększającymi ryzyko wystąpienia raka G2 są MPV – od 9% do 43%, i wiek – do 6,6% ( $p < 0,05$ ). Za pomocą krzywej ROC wyznaczono punkty odcięcia: dla MPV powyżej 8,9 fl, dla wieku więcej niż 62 lata. MPV powyżej 9,8 fl zwiększa ryzyko stopnia G2 niemal dwukrotnie. Wyniki morfologii krwi obwodowej nie są użyteczne w przedoperacyjnej ocenie stopnia zaawansowania raka endometrium i kwalifikacji do limfadenektomii, natomiast stopień zróżnicowania koreluje z wiekiem i MPV. Wyniki badania umożliwiają wykorzystanie MPV w przedoperacyjnym prognozowaniu stopnia zróżnicowania raka endometrium.

**Słowa kluczowe:** rak endometrium, grading, MPV

#### Abstract

Endometrial carcinoma is the most common gynecologic cancer. The method of therapy depends on the histological type, grade and stage of cancer. The primary treatment is surgery: total hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy in stage IA G1/G2, additionally with pelvic lymph node dissection in stage IB and higher and in every case of G3 cancer. Pelvic lymphadenectomy is associated with the risk of multiple complications. The aim of this study was to assess if preoperative complete blood count results are associated with the stage and grade of endometrioid type of endometrial cancer and if they can be used in the preoperative decision making process, for example whether or not to perform lymphadenectomy. This retrospective study included the data of 283 patients with endometrial cancer, treated primarily with surgery at the Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecologic Oncology of the Medical University of Silesia in 2008–2014. The relationship between such factors as age, body mass index, hemoglobin level, hematocrit, PLT, MPV, diabetes, arterial hypertension, nulliparity and endometrial cancer stage and grade was analyzed. The study group was divided into two subgroups: a good prognosis group: IA G1 and IA G2 cancers and a poor prognosis group: IA G3, IB, II, III, IV cancers.

Subsequently, the study group was divided based on histopathological grade into G1, G2 and G3 groups. Statistical analysis was performed with the use of the Student's *t*-test, a *z*-test, the Mann-Whitney *U*-test, the Kolmogorov-Smirnov test and the ROC curve. No statistically significant differences were demonstrated for the factors mentioned above between the good and poor prognosis groups. Logistic regression analysis showed that the factors which increase the risk of G2 cancer include MPV: from 9% to 43% and age: up to 6.6% ( $p < 0.05$ ). The ROC curve was used to determine cut-off points: over 8.9 fL for MPV and over 62 years for age. An MPV of over 9.8 fL increases the risk of G2 cancer nearly twice. Complete blood count results are not useful for preoperative endometrial cancer staging and assessment for lymphadenectomy, while cancer grade correlates with age and MPV. The results of the study show the possibility to use MPV in preoperative prediction of endometrial cancer grading.

**Keywords:** endometrial cancer, grading, MPV

## WPROWADZENIE

Rak trzonu macicy jest najczęstszym nowotworem złośliwym narządu płciowego kobiety, a wśród wszystkich nowotworów u kobiet czwartym pod względem częstości występowania<sup>(1)</sup>. Według Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce każdego roku notuje się ponad 5 tys. nowych zachorowań i około tysiąca zgonów. Schorzenie dotyka głównie kobiety w wieku 55–70 lat, jednak około 5% przypadków dotyczy pacjentek przed 40. rokiem życia.

Na podstawie cech histologicznych i molekularnych wyróżnia się dwa typy raka błony śluzowej trzonu macicy. Według klasyfikacji Bokhmana typ I, zwany rakiem endometrioidalnym (*endometrioid type of endometrial carcinoma*), jest pierwotnym gruczolakorakiem i stanowi 60–65% wszystkich przypadków raka endometrium. Rozwija się na podłożu hiperestrogenizmu, występuje znacznie częściej w krajach rozwiniętych, u kobiet w okresie okołomenopauzalnym i jest związany z otyłością. Charakteryzują go wysoka dojrzałość histologiczna, powolny rozwój i dobre rokowanie. Natomiast typ II, zwany nieendometrioidalnym rakiem endometrium, charakteryzuje się wysokim stopniem złośliwości, wyrażonym poprzez głębokie naciekanie mięśniówki macicy i szybkie powstawanie przerzutów. Nie ma związku ze stymulacją estrogenową, dotyka częściej kobiety starsze i ma złe rokowanie. Do typu II zalicza się gruczolakoraka surowiczego (*adenocarcinoma serosum*), gruczolakoraka jasnokomórkowego (*adenocarcinoma clarocellulare*), raki endometrioidalne G3 i inne mniej częste<sup>(1)</sup>.

Sposób leczenia pierwotnego raka endometrium typu I zależy od typu histologicznego, stopnia zaawansowania kliniczno-patologicznego (*staging*), stopnia histologicznej dojrzałości (*grading*) oraz stanu sprawności pacjentki. Niemniej jednak podstawową metodą terapii jest leczenie chirurgiczne. W stopniu zaawansowania IA wykazującym różnicowanie G1 lub G2 wykonuje się proste usunięcie macicy z przydatkami. Natomiast radykalne wycięcie macicy z przydatkami oraz limfadenektomię miedniczą i ewentualnie okołoaortalną zaleca się w przypadkach o gorszym rokowaniu, to znaczy w stopniu IA G3, oraz niezależnie od stopnia dojrzałości w stopniu IB, II oraz III (jeśli jest operacyjny; wówczas zabieg poszerza się

## INTRODUCTION

Endometrial cancer is the most common gynecologic cancer and the fourth most prevalent of all cancers in women<sup>(1)</sup>. According to the Polish National Cancer Registry, over 5,000 new cases and approximately 1,000 deaths are recorded in Poland every year. The disease usually affects women aged 55–70 years; however, approximately 5% of cases are found in patients aged below 40 years.

There are two types of endometrial cancer distinguished based on histological and molecular characteristics. According to the classification by Bokhman, type 1 disease, called endometrioid endometrial carcinoma, is a primary adenocarcinoma and accounts for 60–65% of all cases of endometrial cancer. It develops as a result of hyperestrogenism, is much more common in developed countries, in perimenopausal women and is associated with obesity. It is characterized by a high histologic grade, slow progression and good prognosis. Type 2, on the other hand, is called non-endometrioid endometrial carcinoma and is characterized by a high degree of malignancy manifesting as deep invasion of the myometrium and quick metastasis formation. It is unrelated to estrogen stimulation, usually affects older women and has poor prognosis. Type 2 disease includes serous adenocarcinoma (*adenocarcinoma serosum*), clear cell adenocarcinoma (*adenocarcinoma clarocellulare*), G3 endometrioid carcinomas and other, less common types<sup>(1)</sup>.

The method of treatment for primary type 1 endometrial cancer depends on histological type, stage and grade of the disease and the patient's general condition. However, the primary method of treatment is surgery. In stage IA grade G1 or G2 disease simple hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy is performed. In cases with poorer prognosis which are stage IA grade G3 and stages IB, II and III regardless of the grade, radical hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy and pelvic and possibly also para-aortic lymph node dissection are recommended. In stage IV palliative hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy or primary systemic treatment should be considered<sup>(2)</sup>.

Thrombocytes play a crucial role in carcinogenesis. Their excessive activation is considered to be the sign of neoplastic proliferation and cardiovascular disease development.

w miarę możliwości o omentektomię i usunięcie wszczepów otrzewnowych). W stopniu IV należy rozważyć paliatywne wycięcie macicy z przydatkami lub pierwotne leczenie systemowe<sup>(2)</sup>.

W procesie progresji nowotworowej niepodważalną rolę odgrywają płytki krwi. Ich nadmierna aktywacja jest uznawana za oznakę procesu nowotworzenia oraz procesów prowadzących do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Komórki nowotworowe wydzielają liczne substancje parakryne, w tym interleukiny IL-1, IL-3, IL-6, które pobudzają do szybkiej proliferacji megakariocyty w szpiku kostnym. W efekcie powstają prymitywne płytki krwi o większej objętości i aktywności enzymatycznej w zakresie wydzielania czynników wzrostu, metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, czynników stymulujących neoangiogenezę. Tym samym pobudzone trombocyty promują nabywanie przez nowotwór cech złośliwości, w tym przekraczania błon podstawnych, możliwości naciekania sąsiednich tkanek oraz zdolności odległego przerzutowania. Ponadto krążące w krwi trombocyty pod wpływem wymienionych interleukin zmieniają kształt na okrągły, co ułatwia prezentację na powierzchni ich błon receptorów biorących udział w agregacji i adhezji. Im dłużej trwa proces nowotworzenia, tym więcej powstaje heterogennej subpopulacji komórek, różniących się morfologicznie i funkcjonalnie od macierzystej tkanki. Przetrwale subpopulacje nabywają kolejnych cech złośliwości między innymi za pośrednictwem nadmiernie zaktywowanych płytek krwi<sup>(3)</sup>. Stąd uzasadnione jest badanie zależności między liczbą płytek krwi, a także ich stanem funkcjonalnym [wyrażonym pośrednio poprzez objętość – MPV (*mean platelet volume* – średnia objętość płytki)] a stopniem progresji raka endometrium. Podobne badania są prowadzone u chorych na raka żołądka, piersi, trzustki, jajnika. Co ważne w aspekcie ewentualnej przydatności PLT (*platelet count* – płytki krwi) i MPV jako biomarkerów, wartości te uzyskuje się łatwo, tanio i powtarzalną metodą.

## CEL PRACY

Celem badania była ocena, czy przedoperacyjne wyniki morfologii krwi obwodowej mają związek ze stopniem zaawansowania i zróżnicowania w typie endometrioidalnym raka endometrium. Ponadto naszym celem było ustalenie, czy wiek, wskaźnik masy ciała (*body mass index*, BMI), rodność, występowanie cukrzycy, nadciśnienia tętniczego korelują ze stopniem zaawansowania i/lub zróżnicowania raka endometrium.

## MATERIAŁ I METODY

Przeanalizowano retrospektywnie dane dotyczące pacjentek chorych na raka trzonu macicy, leczonych w Klinice Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w latach 2008–2014. Na podstawie kryteriów włączenia do badania zakwalifikowano 283 pacjentki.

Cancer cells secrete multiple paracrine substances, including interleukins: IL-1, IL-3 and IL-6, which stimulate megakaryocytes in the bone marrow to proliferate rapidly. As a result, primitive platelets are formed. They are larger in volume and produce more enzymes such as growth factors, matrix metalloproteinases and angiogenesis-stimulating factors. Thus, activated platelets promote malignant transformation by enabling damage of basement membranes, tissue infiltration and metastasis. In addition, platelets stimulated by interleukins change their shape to a round one, which facilitates the presentation of aggregation- and adhesion-mediating receptors on their surface. The longer carcinogenesis lasts, the higher is the number of heterogeneous cell subpopulations which are morphologically and functionally different from the original tissue. Persistent subpopulations acquire further malignant abilities through activated platelets<sup>(3)</sup>. Thus, it is reasonable to study the correlation between platelet count as well as their functional status (expressed indirectly by mean platelet volume, MPV) and the stage of endometrial cancer. Similar studies are being conducted in gastric, breast, pancreatic and ovarian cancer patients. In terms of the possible use of platelet count (PLT) and MPV as biomarkers, they can be accomplished by an easy, cheap and repeatable method.

## AIM OF THE STUDY

The aim of the study was to assess if preoperative complete blood count results are associated with the stage and grade of endometrioid endometrial cancer. In addition, we aimed to determine whether age, body mass index (BMI), parity, and comorbidities such as diabetes or arterial hypertension correlate with the stage and/or grade of endometrial cancer.

## MATERIAL AND METHODS

A retrospective analysis was performed on the data of endometrial cancer patients treated at the Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecologic Oncology of the Medical University of Silesia in Katowice, Poland, in 2008–2014. Based on the inclusion criteria 283 patients were included in the study.

Inclusion criteria:

1. G1, G2 and G3 endometrioid endometrial cancer;
2. primary surgical treatment;
3. surgery involving at least hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy.

Exclusion criteria:

1. non-endometrioid endometrial cancer;
2. non-epithelial cancer (mesenchymal or other);
3. neoadjuvant systemic therapy (including hormonal treatment);
4. previous surgical treatment of endometrial cancer;
5. surgery involving less than hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy;
6. no possibility to perform primary surgical treatment.

Kryteria włączenia:

1. rak endometriumu typu endometrioidalnego G1, G2 lub G3;
2. pierwotne leczenie chirurgiczne;
3. operacja o zasięgu co najmniej usunięcia macicy i przydatków.

Kryteria wyłączenia:

1. rak endometriumu nieendometrioidalny;
2. nowotwór pochodzenia nienabłonkowego (mezenchymalnego lub innego);
3. stan po przebytych pierwotnym leczeniu systemowym (w tym hormonalnym);
4. stan po przebytych wcześniej leczeniu operacyjnym raka endometriumu;
5. operacja o zasięgu mniejszym niż usunięcie macicy i przydatków;
6. niemożność przeprowadzenia pierwotnego leczenia operacyjnego.

Przedoperacyjne wyniki badań – PLT, MPV, hemoglobina (HGB), hematokryt (Hct) – oraz dane dotyczące występowania u pacjentek cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, rodności, wieku i BMI uzyskano z historii chorób.

Badania laboratoryjne, których wyniki analizowano, były wykonywane przed zabiegiem operacyjnym w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Szpitala Specjalistycznego nr 2 w Bytomiu.

Informacje o typie histologicznym nowotworu i stopniu różnicowania uzyskano z protokołów badań histopatologicznych przeprowadzanych w Pracowni Histopatologii Szpitala Specjalistycznego nr 2 w Bytomiu. Informacje odnośnie do stopnia zaawansowania raka zaczerpnięto z protokołów operacji.

Uzyskano opinię Terenowej Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o braku konieczności wyrażenia zgody (nr KNW/0022/KB/176/14 z dn. 14.10.2014 r.).

Pacjentki podzielono na dwie grupy: 1) grupę dobrego rokowania, obejmującą nowotwory w stopniu IA G1 i IA G2 oraz 2) grupę średniego i złego rokowania, obejmującą nowotwory w stopniu IA G3, IB, II, III, IV. Następnie podzielono całą grupę badaną na poszczególne stopnie różnicowania raka endometriumu (G1, G2, G3).

## Statystyka

Dane parametryczne o rozkładzie normalnym były wyrażone poprzez średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe. Weryfikację hipotezy zgodności między zbiorem wartości badanej próby a rozkładem normalnym wykonano za pomocą testu Shapiro–Wilk. Analizę jednorodności wariancji wykonano przy użyciu testu Levene'a. Wykonano weryfikację statystyczną istotności różnic pomiędzy średnimi w dwóch niezależnych grupach w przypadku zmiennych parametrycznych spełniających założenia o rozkładzie normalnym i jednorodności wariancji przy użyciu testów *t*-Studenta oraz testu *z*. Zmienne nieparametryczne zostały wyrażone w postaci liczb całkowitych i wartości procentowych.

Preoperative test results for PLT, MPV, hemoglobin (HGB) and hematocrit (HCT) and data regarding the comorbidities, parity, age and BMI were obtained from the patients' medical records.

The analyzed laboratory tests were performed before surgery at the laboratory of our hospital.

The histologic type and grade of the cancer were obtained from histopathology reports. The tests were performed at the local Histopathology Unit. We evaluated cancer stage based on surgical reports.

The Ethics Committee of the Medical University of Silesia did not make any reservations to our study.

The patients were divided into two groups: 1) good prognosis group including IA G1 and IA G2 cancer; 2) medium and poor prognosis group including stage IA G3, IB, II, III and IV cancer. Subsequently, the whole study group was divided based on endometrial cancer grade into G1, G2 and G3 groups.

## Statistics

Parametric data of a normal distribution were expressed as arithmetic mean and standard deviation. The Shapiro–Wilk test was used to verify the compatibility hypothesis between the test set and the normal distribution. The analysis of variance homogeneity was performed using the Levene's test. The Student's *t*-test and a *z*-test were used to verify the statistical significance of the differences between means in two independent groups for parametric variables with normal distribution and variance homogeneity. Non-parametric variables were expressed as numbers and percentages. The Mann–Whitney *U*-test and the Kolmogorov–Smirnov tests were used for non-parametric variables.

The optimal cut-off points for parametric variables were determined using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis based on the Hanley and McNeil method.

A multivariate analysis was performed using a logistic regression model that included the most important variables. For this model, the Rosenbrock and quasi-Newton estimation methods were used. The results are presented as odds ratio (OR) with a 95% confidence interval (CI).

Differences revealed in the course of analysis were considered statistically significant if  $p < 0.05$ . The calculations were performed using the Statistica: Basic Statistics software by StatSoft (Tulsa, USA) and MedCalc: Logistic Regression, ROC Curves software (Ostend, Belgium). Some of the graphs were created using the GraphPad Prism 5™: Forest plot software.

## RESULTS

### Demographic and clinical characteristics of the population

The study included the data of 283 patients. The mean age of the study population was  $62.9 \pm 9.4$  years. Eighty-four patients (29.7%) had diabetes and 190 had hypertension (67.1%). The mean BMI of the group was  $30.5 \pm 5.1$  kg/m<sup>2</sup>.



W przypadku zmiennych nieparametrycznych zastosowano test *U* Manna–Whitneya oraz test Kołmogorowa–Smirnowa. Optymalne punkty odcięcia parametrycznych zmiennych zostały wyznaczone poprzez jakościową analizę krzywej (*receiver operating characteristics*, ROC), stosując metodologię Hanleya i McNeil.

Model regresji logistycznej z użyciem najistotniejszych zmiennych został użyty w celu wykonania analizy wieloczynnikowej. W modelu tym użyto metody estymacji Rosenbrocka i quasi-Newtona. Uzyskane wyniki przedstawiono jako iloraz szans (*odds ratio*, OR) z 95-procentowym przedziałem ufności (*confidence interval*, CI).

Przyjęto, że wykonane analizy prezentują różnice istotne statystycznie, jeżeli  $p < 0,05$ . Do wykonania obliczeń został użyty program Statistica firmy StatSoft (Tulsa, USA) – statystyki podstawowe, oraz program MedCalc (Ostend, Belgia) – regresja logistyczna, analiza krzywej ROC. Część wykresów została stworzona przy pomocy oprogramowania GraphPad Prism 5™ – wykresy typu Forest plot.

## WYNIKI

### Charakterystyka demograficzna i kliniczna populacji

Do badania włączono dane 283 pacjentek. Średni wiek badanej populacji wynosił  $62,9 \pm 9,4$  roku. Osiedziestą cztery pacjentki (29,7%) chorowały na cukrzycę, 190 na nadciśnienie tętnicze (67,1%), średni wskaźnik BMI wynosił  $30,5 \pm 5,1$  kg/m<sup>2</sup>. Pełne dane demograficzne i kliniczne badanej populacji ilustrują tab. 1 oraz ryc. 1 i 2.

Zmienna Variable	Cała badana populacja pacjentek z rakiem trzonu macicy (N = 283) The whole study population of patients with endometrial cancer (N = 283)
Wiek Age	62,9 ± 9,4
Wskaźnik BMI (kg/m <sup>2</sup> ) BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,5 ± 5,1
Hemoglobina (g/dl) Hemoglobin (g/dL)	13,3 ± 1,4
Hematokryt (%) Hematocrit (%)	39,8 ± 4,2
Płytki krwi (tys./mm <sup>3</sup> ) Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	259,1 ± 70,2
MPV (fl) MPV (fL)	8,43 ± 1,86
Cukrzyca Diabetes	29,7% (84)
Nadciśnienie tętnicze Hypertension	67,1% (190)
Nierództwo lub urodzenie tylko jednego dziecka Nulliparity or one child	34,9% (99)

Tab. 1. Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej populacji

Tab. 1. Demographic and clinical characteristics of the study population

The complete demographic and clinical data are presented in Tab. 1 and Figs. 1 and 2. Tab. 2 presents a comparison of demographic and clinical data between group 1 and 2.

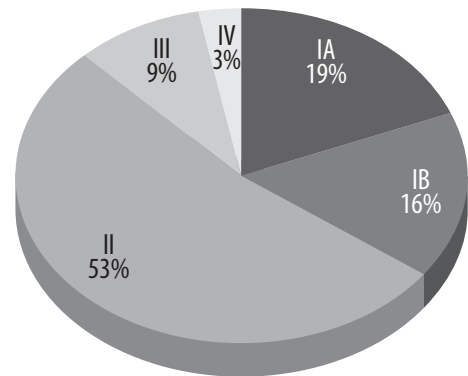
### Analysis of risk factors associated with the stage and grade of endometrial cancer

We did not identify any risk factors with a significant impact on the stage of endometrial cancer.

Logistic regression analysis for all studied risk factors for G2 disease is presented in Fig. 3 and Tab. 3. Age significantly raises the risk of G2 disease from approximately 1% to 6.6%, while MPV increases this risk from 9% to 43%.

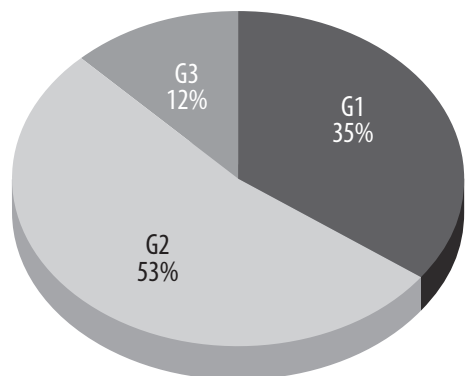
### Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis

The results of receiver operating characteristic curve analysis of variables with a significant impact on the prevalence of G2 disease (MPV, age) are presented in Figs. 4 and 5.



Ryc. 1. Stopień zaawansowania klinicznego raka trzonu macicy w całej badanej populacji

Fig. 1. Endometrial cancer stage in the whole study population



Ryc. 2. Stopień zróżnicowania raka trzonu macicy w całej badanej populacji

Fig. 2. Endometrial cancer grade in the whole study population

Zmienna Variable	Grupa dobrego rokowania (n = 102) Good prognosis group (n = 102)	Grupa średniego i złego rokowania (n = 181) Medium and poor prognosis group (n = 181)	p
Wiek Age	61,79 ± 9,75	63,67 ± 9,14	0,106
Wskaźnik BMI (kg/m <sup>2</sup> ) BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,79 ± 5,96	30,39 ± 6,19	0,599
Hemoglobina (g/dl) Hemoglobin (g/dL)	13,38 ± 1,33	13,26 ± 1,46	0,473
Hematokryt (%) Hematocrit (%)	40,04 ± 3,92	39,74 ± 4,39	0,565
Płytki krwi (tys./mm <sup>3</sup> ) Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	251,16 ± 57,44	263,50 ± 76,19	0,155
MPV (fl) MPV (fL)	8,53 ± 1,79	8,38 ± 1,91	0,535
Cukrzyca Diabetes	29,4% (30)	29,8% (54)	0,941
Nadciśnienie tętnicze Hypertension	61,8% (63)	70,2% (127)	0,249
Nierództwo lub urodzenie jednego dziecka Nulliparity or giving birth to one child	37,2% (38)	33,7% (61)	0,548
Stopień G1 Grade 1	46,1% (47)	26,5% (48)	<b>0,0008</b>
Stopień G2 Grade 2	53,9% (55)	54,7% (99)	0,549
Stopień G3 Grade 3	-	18,8% (34)	-

Tab. 2. Porównanie grupy dobrego rokowania z grupą średniego i złego rokowania pod względem danych demograficznych i klinicznych  
Tab. 2. Comparison of demographic and clinical data between the good prognosis group and the medium and poor prognosis group

Porównanie danych demograficznych i klinicznych populacji z uwzględnieniem grup 1. i 2. przedstawiono w tab. 2.

### Analiza czynników ryzyka mających związek ze stopniem zaawansowania klinicznego i zróżnicowania histologicznego

Nie zidentyfikowano czynników ryzyka mających istotny wpływ na występowanie wyższego stopnia zaawansowania klinicznego raka trzonu macicy.

Analizę regresji logistycznej wszystkich analizowanych czynników ryzyka wystąpienia stopnia zróżnicowania G2 ilustrują ryc. 3 oraz tab. 3. Wiek istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia stopnia zróżnicowania G2 z około 1% do 6,6%, natomiast MPV – z 9% do 43%.

### Analiza krzywej odbiornika (ROC)

Wyniki analizy krzywej odbiornika zmiennych mających istotny wpływ (MPV, wiek) na częstość występowania stopnia zróżnicowania histologicznego G2 ilustrują ryc. 4 oraz 5. Średnia objętość płytki większa od 8,9 fl oraz wiek powyżej 62 lat wykazują istotny wpływ na częstość występowania stopnia zróżnicowania histologicznego G2.

Mean platelet volume higher than 8.9 fL and age over 62 years were found to have a significant impact on the prevalence of G2 disease.

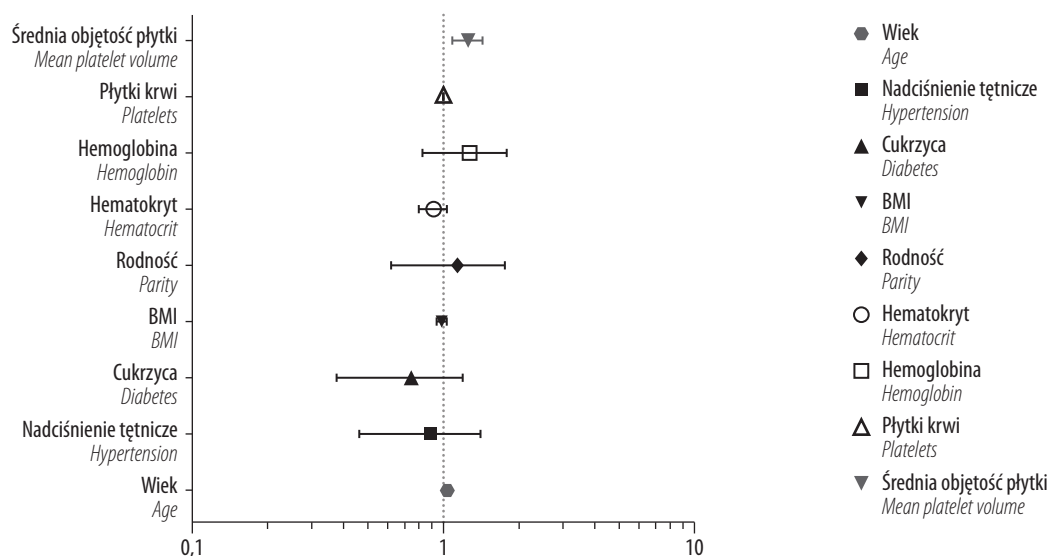
### Odds ratio of different cut-off points for MPV and age

Based on ROC curve analysis, odds ratio was determined for different cut-off points for MPV and age, as presented in Figs. 6 and 7.

## DISCUSSION

Preoperative prediction of cancer stage and grade is the subject of interest for scientists and clinicians, particularly due to serious complications which may be potentially caused by radical surgery. In endometrial cancer the highest risk of complications is associated with pelvic (and sometimes para-aortic) lymphadenectomy. The complications include: edema, lymphoceles, ileus, relaparotomy, blood loss, damage to neighboring organs and major blood vessels, hemorrhage, thromboembolism<sup>(4-6)</sup>.

Preoperative assessment of the depth of myometrial invasion using magnetic resonance imaging provides 30% false



Ryc. 3. Regresja logistyczna czynników ryzyka wystąpienia stopnia zróżnicowania G2  
Fig. 3. Logistic regression for G2 disease risk factors

Zmienna	Iloraz szans	95% CI	p
MPV	1,2517	1,0908–1,4363	0,0014
Wiek	1,0372	1,0087–1,0666	0,0103
PLT	1,007	0,9972–1,0043	0,6886
Hemoglobina	1,2162	0,8257–1,7916	0,3219
Hematokryt	0,9081	0,7974–1,0343	0,1465
Nierództwo lub urodzenie tylko jednego dziecka	1,0449	0,6205–1,7595	0,8688
BMI	0,9856	0,9421–1,0311	0,5293
Cukrzyca	0,6703	0,3761–1,1948	0,1749
Nadciśnienie tętnicze	0,8059	0,4618–1,4363	0,4474

Tab. 3. Iloraz szans czynników ryzyka wystąpienia stopnia zróżnicowania G2  
Tab. 3. Odds ratio for G2 disease risk factors

### Iloraz szans poszczególnych punktów odcięcia dla zmiennej MPV i wieku

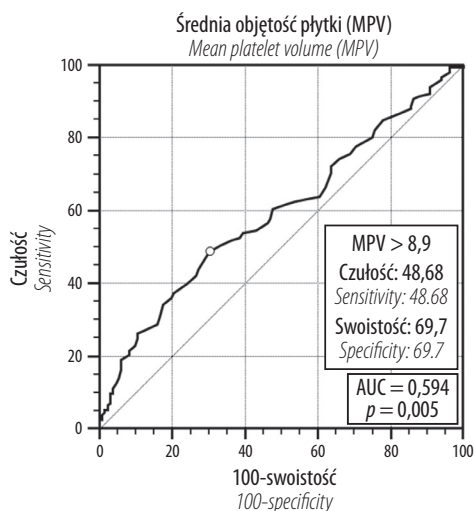
Na podstawie uzyskanych danych z analizy krzywej ROC wyznaczono iloraz szans dla poszczególnych punktów odcięcia zmiennej MPV oraz wieku, co ilustrują ryc. 6 i 7.

### OMÓWIENIE

Przedoperacyjne prognozowanie stopnia zaawansowania i zróżnicowania chorób nowotworowych jest przedmiotem zainteresowania naukowców i klinicystów, przede wszystkim z uwagi na poważne powikłania, które może potencjalnie przynieść radykalna operacja. W raku endometrium największe ryzyko powikłań związane jest z limfadenektomią miedniczą i ewentualnie okołoaortalną. Do powikłań

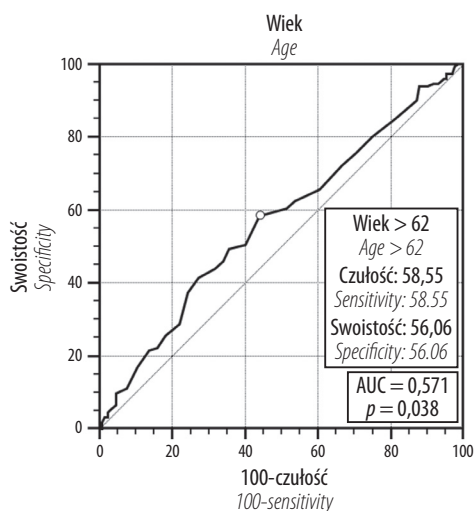
negative and 18% false positive results<sup>(7)</sup>. The accuracy of transvaginal ultrasound assessment of myometrial invasion is 84%. The sensitivity of this method for the diagnosis of metastases to the adnexa is 73%, of cervical invasion is 86% and of metastases to lymph nodes is 33%<sup>(8)</sup>. In terms of grading, in 12–39% of cases there are discrepancies between the dilation and curettage report and the final result<sup>(9–11)</sup>.

A preoperative method for predicting the need for lymphadenectomy could reduce the risk of postoperative complications. Tsikouras et al. proposed a model which classifies patients preoperatively into a low lymphadenectomy risk group based on a Ca 125 level of below 35 IU/mL, less than 50% myometrial invasion on magnetic resonance imaging (MRI) and grade G1 and G2 in endometrial sampling. The sensitivity of the model is 96% and its



AUC (area under the curve) – pole pod krzywą.  
AUC – area under the curve.

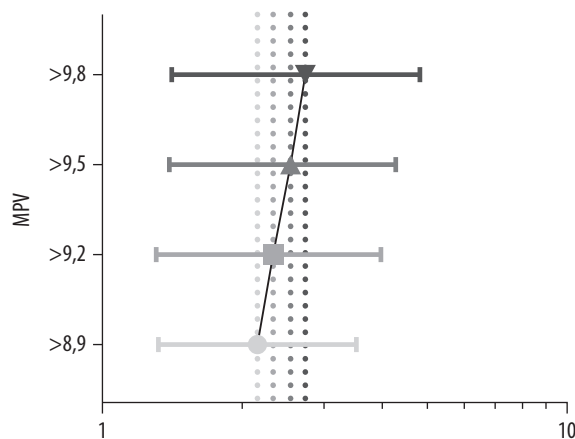
Ryc. 4. Analiza krzywej odbiornika (ROC) zmiennej MPV  
Fig. 4. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of the MPV variable



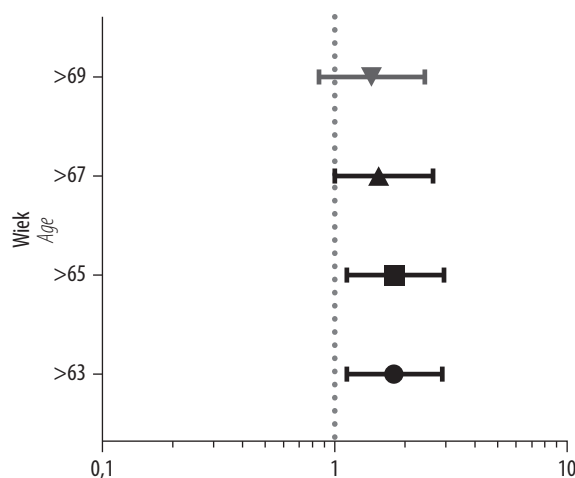
Ryc. 5. Analiza krzywej odbiornika (ROC) zmiennej wiek  
Fig. 5. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of the age variable

należą: obrzęki, torbiele chłonne, niedrożność przewodu pokarmowego, relaparotomia, utrata krwi, uszkodzenia okolicznych narządów i dużych naczyń krwionośnych, krwotok, powikłania zakrzepowo-zatorowe<sup>(4-6)</sup>.

Przedoperacyjna ocena głębokości naciekania mięśnia macicy za pomocą rezonansu magnetycznego daje 30% fałszywie ujemnych i 18% fałszywie dodatnich wyników<sup>(7)</sup>. Dokładność oceny naciekania miometrium za pomocą ultrasonografii przezpochwowej mieści się w granicach 84%. Czułość tej metody dla diagnostyki przerzutów do przydatków wynosi 73%, naciekania szyjki – 86%, a przerzutów do węzłów chłonnych – 33%<sup>(8)</sup>. W zakresie oceny stopnia zróżnicowania w 12–39% przypadków notuje się rozbieżności pomiędzy wynikiem z wyskrobin z jamy macicy a wynikiem ostatecznym<sup>(9-11)</sup>.



Ryc. 6. Iloraz szans dla poszczególnych punktów odcięcia zmiennej MPV  
Fig. 6. Odds ratio for different cut-off points for the MPV variable



Ryc. 7. Iloraz szans dla poszczególnych punktów odcięcia zmiennej wiek  
Fig. 7. Odds ratio for different cut-off points for the age variable

specificity is 74%<sup>(12)</sup>. However, the use of MRI increases costs and delays the time of starting treatment due to diverse availability of this procedure.

PLT and MPV assays are cheap, repeatable and widely available. Their utility for preoperative assessment has been studied for many types of cancer. In the case of gastric cancer it has been demonstrated that a lower preoperative MPV level is associated with a lower stage of the disease and a better survival rate<sup>(13)</sup>. Similarly, in studies on postoperative survival in esophageal cancer it was proven that PLT over 212,000 and MPV over 10.6 fL are negative prognostic factors<sup>(14)</sup>.

Our study is unique in terms of the number of subjects in the study group and the comprehensiveness of the study: all widely available data and known endometrial cancer risk factors have been studied for the impact on cancer stage and grade. Giannella et al. found that in



Przedoperacyjna metoda prognozowania konieczności limfadenektomii mogłaby zmniejszyć ryzyko powikłań pooperacyjnych. Tsikouras i wsp. zaproponowali model, który przedoperacyjnie na podstawie Ca 125 poniżej 35 IU/ml, głębokości naciekania miometriu mniejszego niż 50% w rezonansie magnetycznym (*magnetic resonance imaging*, MRI) i stopnia G1 lub G2 w wyskrobinach z jamy macicy klasyfikuje pacjentkę do grupy niskiego ryzyka limfadenektomii z czułością 96% i specyficznością 74%<sup>(12)</sup>. Jednak MRI zwiększa koszty i wydłuża czas podjęcia terapii ze względu na zróżnicowaną dostępność.

Tanie, powtarzalne i szeroko dostępne jest oznaczenie PLT i MPV, których znaczenie w ocenie przedoperacyjnej zbadano już dla wielu chorób nowotworowych. Dla raka żołądka wykazano, że niższe przedoperacyjne MPV jest związane z niższym stopniem zaawansowania i lepszą przeżywalnością<sup>(13)</sup>. Podobnie w badaniach nad przeżywalnością pooperacyjną w raku przełyku udowodniono, że PLT powyżej 212 tys. i MPV powyżej 10,6 fl są czynnikami złymi prognostycznie<sup>(14)</sup>.

Nasze badanie jest unikatowe pod względem liczebności grupy badanej i kompleksowości – przebadano wszystkie szeroko dostępne dane i znane czynniki ryzyka wystąpienia raka endometrium pod kątem wpływu na stopień zaawansowania i zróżnicowania. Giannella i wsp. stwierdzili, że w raku endometrium PLT powyżej 300 tys. zwiększa ryzyko wystąpienia stopnia zróżnicowania G3. W niniejszej analizie nie wykazano istotnego statystycznie związku PLT ze stopniem zróżnicowania raka endometrium, natomiast udowodniono związek MPV z ryzykiem wystąpienia raka w stopniu G2. Rozbieżność ta może wynikać z faktu, że Giannella i wsp. badali grupę ponad dwukrotnie mniejszą, ponadto nie badali MPV, która oddaje stan funkcjonalny trombocytów istotny dla onkogenezy<sup>(15)</sup>. Podobnie Ayhan i wsp. wykazali dwukrotnie wyższe ryzyko wystąpienia raka G3 i naciekania szyjki macicy dla PLT powyżej 325 tys., ale ich grupa badana była również niemal dwukrotnie mniejsza i nie badali oni MPV<sup>(16)</sup>. Natomiast już Kaloglu i wsp. na podstawie badania 190 pacjentek stwierdzili, że nie ma korelacji pomiędzy przedoperacyjnym poziomem płytek krwi a stopniem zaawansowania i zróżnicowania raka endometrium<sup>(17)</sup>. Badanie MPV, a nie PLT, jest tym bardziej zasadne, że jego wzrost jest obserwowany jednocześnie z większą ekspresją protoonkogenu c-kit w raku trzonu macicy w porównaniu ze zdrowym endometrium<sup>(18)</sup>. Zauważono, że wskaźniki MPV i PDW (*platelet distribution width* – wskaźnik anizocytozy płytek krwi) są statystycznie wyższe u pacjentek z rakiem trzonu macicy w porównaniu z pacjentkami z przerostem endometrium oraz zdrowymi<sup>(19)</sup>.

Niewiele jest publikacji na temat wpływu wieku na parametry prognostyczne w raku endometrium. Farley i wsp. dowiedli, że przeżywalność pacjentek z rakiem trzonu macicy znacząco spada po 50. roku życia. Sugerowali, że ten efekt mogą wywoływać zmiany molekularne lub inne, nie-nowotworowe przyczyny<sup>(20)</sup>. Ogan i wsp. zwrócili uwagę,

endometrial cancer PLT over 300,000 increases the risk of G3 disease. In this analysis no statistically significant relationship between PLT and endometrial cancer grade has been demonstrated; however, the relationship between MPV and G2 cancer risk has been proven. This discrepancy may be due to the fact that Giannella et al. studied a more than twice smaller group and they did not investigate MPV, which reflects the functional status of platelets that is important for oncogenesis<sup>(15)</sup>. Also, Ayhan et al. demonstrated a twice as high risk of G3 cancer and cervical invasion for PLT of over 325,000; however, their study group was nearly twice smaller too and they did not study MPV<sup>(16)</sup>. Based on a study of 190 patients Kaloglu et al. concluded that there is no correlation between preoperative blood platelet level and endometrial cancer stage and grade<sup>(17)</sup>. The use of MPV assay, not that of PLT, is all the more justified due to the fact that MPV increase is observed concurrently with a higher proto-oncogene c-kit expression in endometrial cancer compared to a healthy endometrium<sup>(18)</sup>. It has been observed that MPV and platelet distribution width (PDW) are statistically higher in patients with endometrial cancer in comparison with patients with endometrial hyperplasia and healthy women<sup>(19)</sup>.

There are few publications on the influence of age on prognosis in endometrial cancer. Farley et al. demonstrated that endometrial cancer patient survival decreases substantially after 50 years of age. They suggested that this may be due to molecular changes or other, non-cancerous causes<sup>(20)</sup>. Ogan et al. noted that patients aged over 70 may have negative prognostic factors such as ER (–) and p53 (+)<sup>(21)</sup>. The results of our study allow us to suspect another cause of poorer survival: lower cancer differentiation grade at older age.

The discussion on predicting the stage and grade of endometrial cancer is still open. A precise and easily available method of preoperative assessment makes it possible to reduce the number of complications, while, at the same time, ensuring that radical treatment is provided to those patients who need it.

## CONCLUSIONS

Complete blood count, age and comorbidities do not have a significant impact on the stage of endometrial cancer. However, we demonstrated the influence of risk factors on cancer grade. Age over 62 years and MPV of more than 8.9 fL increase the risk of G2 cancer. MPV of over 9.8 fL increases the risk of G2 cancer nearly twice.

In summary, complete blood count is not useful for preoperative staging of endometrial cancer. However, cancer grade correlates with age and mean platelet volume. This may be associated with malignant transformation of less differentiated types of cancer via activated platelets. The results of the study warrant the use of MPV for preoperative predictive endometrial cancer grading.

że u pacjentek powyżej 70. roku życia można zaobserwować czynniki złe prognostycznie, takie jak ER (-) i p53 (+)<sup>(21)</sup>. Wyniki naszego badania pozwalają przypuszczać kolejną przyczynę gorszej przeżywalności – niższy stopień różnicowania raka w starszym wieku.

Dyskusja nad prognozowaniem stopnia zaawansowania i różnicowania raka endometrium pozostaje otwarta. Precyzyjna i łatwo dostępna ocena przedoperacyjna oznacza zminimalizowanie liczby powikłań, a jednocześnie jak najbardziej radykalne leczenie dla pacjentek, które tego wymagają.

## WNIOSKI

Parametry krwi obwodowej, wiek i choroby towarzyszące nie mają istotnego wpływu na stopień zaawansowania klinicznego raka endometrium. Natomiast udowodniono wpływ czynników ryzyka na stopień różnicowania raka trzonu macicy. Wiek powyżej 62 lat oraz MPV powyżej 8,9 fl zwiększają ryzyko wystąpienia raka o stopniu różnicowania G2. MPV powyżej 9,8 fl zwiększa ryzyko wystąpienia raka w stopniu G2 niemal dwukrotnie.

Podsumowując, wyniki morfologii krwi obwodowej nie są użyteczne w przedoperacyjnej ocenie stopnia zaawansowania raka endometrium. Natomiast stopień różnicowania histologicznego koreluje z wiekiem i średnią objętością płytki krwi. Może to mieć związek z nabywaniem cech złośliwości za pośrednictwem zaktywowanych trombocytów przez mniej różnicowane typy raka. Wyniki badania umożliwiają wykorzystanie MPV w przedoperacyjnym prognozowaniu stopnia różnicowania raka endometrium.

### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

### Piśmiennictwo / References

1. Banas T, Juszczak Z, Pitynski K et al.: Incidence and mortality rates in breast, corpus uteri, and ovarian cancers in Poland (1980–2013): an analysis of population-based data in relation to socioeconomic changes. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 5521–5530.
2. Denschlag D, Ulrich U, Emons G: The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies. *Dtsch Arztebl Int* 2010; 108: 571–577.
3. Menter DG, Tucker SC, Kopetz S et al.: Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev* 2014; 33: 231–269.
4. Achouri A, Huchon C, Bats AS et al.: Complications of lymphadenectomy for gynecologic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 81–86.

### Conflict of interest

*The authors do not report any financial or personal affiliations to persons or organizations that could adversely affect the content of or claim to have rights to this publication.*

5. Ware RA, van Nagell JR: Radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy: indications, technique, and complications. *Obstet Gynecol Int* 2010; 2010. pii: 587610. DOI: 10.1155/2010/587610.
6. Horvath S, George E, Herzog TJ: Unintended consequences: surgical complications in gynecologic cancer. *Womens Health (Lond)* 2013; 9: 595–604.
7. Body N, Lavoué V, De Kerdaniel O et al.: Are preoperative histology and MRI useful for classification of endometrial cancer risk? *BMC Cancer* 2016; 16: 498.
8. Sawicki W, Spiewankiewicz B, Stelmachów J et al.: The value of ultrasonography in preoperative assessment of selected prognostic factors in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003; 24: 293–298.
9. Karateke A, Tug N, Cam C et al.: Discrepancy of pre- and postoperative grades of patients with endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2011; 32: 283–285.
10. Kisiielewski F, Gajewska ME, Marczevska MJ et al.: Comparison of endometrial biopsy and postoperative hysterectomy specimen findings in patients with atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Ginekol Pol* 2016; 87: 488–492.
11. Göksedef B, Akbayır O, Corbacioğlu A et al.: Comparison of preoperative endometrial biopsy grade and final pathologic diagnosis in patients with endometrioid endometrial cancer. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 2012; 13: 106–110.
12. Tsikouras P, Koukouli Z, Bothou A et al.: Preoperative assessment in endometrial cancer. Is triage for lymphadenectomy possible? *J BUON* 2017; 22: 34–43.
13. Shen XM, Xia YY, Lian L et al.: Mean platelet volume provides beneficial diagnostic and prognostic information for patients with resectable gastric cancer. *Oncol Lett* 2016; 12: 2501–2506.
14. Zhang F, Chen Z, Wang P et al.: Combination of platelet count and mean platelet volume (COP-MPV) predicts postoperative prognosis in both resectable early and advanced stage esophageal squamous cell cancer patients. *Tumour Biol* 2016; 37: 9323–9331.
15. Giannella L, Menozzi G, Di Monte I et al.: [Preoperative platelet count as index of the grading in endometrial carcinoma]. *Minerva Ginecol* 2008; 60: 273–279.
16. Ayhan A, Bozdogan G, Taskiran C et al.: The value of preoperative platelet count in the prediction of cervical involvement and poor prognostic variables in patients with endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2006; 103: 902–905.
17. Kaloglu S, Guraslan H, Tekirdag AI et al.: Relation of preoperative thrombocytosis between tumor stage and grade in patients with endometrial cancer. *Eurasian J Med* 2014; 46: 164–168.
18. Sehitoglu I, Bedir R, Ural UM et al.: Relationships between c-kit expression and mean platelet volume in benign, preneoplastic and neoplastic endometrium. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 1495–1499.
19. Karateke A, Kaplanoglu M, Baloglu A: Relations of platelet indices with endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 4905–4908.
20. Farley JH, Nycum LR, Birrer MJ et al.: Age-specific survival of women with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 2000; 79: 86–89.
21. Ogane N, Hori SI, Yano M et al.: Preponderance of endometrial carcinoma in elderly patients. *Mol Clin Oncol* 2018; 9: 269–273.